



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555626_0033

AUS DEM INSTITUT FÜR INFektions- UND TROPENMEDIZIN
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(ÄRZTL. LEITER PROF. DR. MED. W. LANG)

LEISHMANIA DONOVANI IN KLEINEN NAGETIEREN

INAUGURAL - DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN
AN DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON
LUDWIG KRAUSE

AUS
MÜNCHEN

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr.med. H.E. Krampitz

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. W. Lang

Dekan: Prof. Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.1.1977



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Vorwort	1
2. Die Bedeutung der Mutter	2
3. Die Entwicklung der Mutter	3
4. Die Aufgaben der Mutter	4
5. Die Beziehung der Mutter zum Kind	5
6. Die Beziehung der Mutter zur Familie	6
7. Die Beziehung der Mutter zur Gesellschaft	7
8. Die Beziehung der Mutter zur Natur	8
9. Die Beziehung der Mutter zum Tode	9
10. Die Beziehung der Mutter zum Leben	10
11. Die Beziehung der Mutter zum Schmerz	11
12. Die Beziehung der Mutter zum Glück	12
13. Die Beziehung der Mutter zum Wissen	13
14. Die Beziehung der Mutter zum Glauben	14
15. Die Beziehung der Mutter zum Handeln	15
16. Die Beziehung der Mutter zum Denken	16
17. Die Beziehung der Mutter zum Fühlen	17
18. Die Beziehung der Mutter zum Wollen	18
19. Die Beziehung der Mutter zum Können	19
20. Die Beziehung der Mutter zum Sein	20

Verlag

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	2
I. Leishmania donovani, der Erreger der visceralen Leishmaniase in Praxis und Tierexperiment. Bisherige Erfahrungen im Spiegel der Literatur	4
II. Eigene Untersuchungen	17
1. Material und Methoden	17
2. Ergebnisse	20
a. Die Ermittlung der Wirtsbevorzugung	20
b. Prüfung von Immunsuppressiva	22
c. Das günstigste Arrangement	25
III. Diskussion	28
IV. Zusammenfassung	32
Summary	34
V. Literaturverzeichnis	36
Lebenslauf	

E I N L E I T U N G

Experimentelle Übertragungen von Leishmanien auf Versuchstiere haben aus diagnostischen Gründen oder, um den Stamm für wissenschaftliche Untersuchungen lebend zu erhalten, nach wie vor eine Bedeutung. Obwohl sich Leishmanien in Dauerpassagen sehr gut in vitro halten lassen, ist dort jedoch bei längerer Zuchtdauer mit einem Rückgang ihrer Infektiosität für den warmblütigen Wirt zu rechnen.

Die im Warmblüter intrazellulär lebenden Parasiten können ähnlich anderen Trypanosomatiden bei längerer Passagehaltung auf leblosen Nährböden später nicht mehr oder nur noch mit großen Schwierigkeiten in der Vertebratenzelle zur Entwicklung gebracht werden.

Für die künstliche Passagehaltung im Versuchstier gilt Analoges. In dieser Weise gehaltene Stämme sind nur noch mit Mühe oder gar nicht auf leblose Nährböden zu übertragen.

Die Zahl der Kleinsäugetiere, vor allem Nagerarten, die sich für eine spontane und experimentelle Infektion mit *Leishmania donovani* als empfindlich erweisen, ist in den letzten Jahren ständig gewachsen (KRAMPITZ 1964). Dabei fällt auf, daß man bisher den wichtigsten mitteleuropäischen Kleinnagetieren im Hinblick auf ihre experimentelle Empfänglichkeit für den Parasiten relativ wenig Aufmerksamkeit geschenkt hat, obwohl diese zum Teil bis in den Mittelmeerraum hinein natürlich verbreitet sind.

Gleichwohl sollte es in meinen Kleintierversuchen nicht in erster Linie darauf ankommen, Hinweise auf ein mögliches natürliches Tierreservoir in endemischen Gebieten zu geben, sondern lediglich Versuchstierarten und Manipulationen herauszufinden, die sich für die Lebenshaltung und Vermehrung von *L. donovani* besonders geeignet erweisen und dadurch auch den Nachweis kleiner Parasitenmengen tierexperimentell gestatten.

Außerdem sollte durch Verwendung immunsuppressiver Medikamente verschiedener Stoffklassen versucht werden herauszufinden, ob und wann Immunsuppressiva bei diagnostischen Tierversuchen nützlich sein können.

I. *Leishmania donovani*, der Erreger der visceralen Leishmaniase in Praxis und Tierexperiment

Bisherige Erfahrungen im Spiegel der Literatur

Die parasitischen Protozoen der Gattung *Leishmania* sind als Erreger einer Gruppe von Erkrankungen des Menschen und teilweise auch der Tiere bekannt, die als *Leishmaniasen* oder *Leishmaniosen* bezeichnet werden. Alle werden durch Kleinmücken der Unterfamilie *Phlebotominae* übertragen. Diese "Schmetterlingsmücken" (engl. sand flies) sind auf warmes Klima angewiesen und begrenzen die autochthone Entstehung von Leishmaniasen auf Tropen und Subtropen.

Als Angehörige der Familie *Trypanosomatidae* besitzen Leishmanien zwei Kerne, einen Zellkern und einen Kinetoplasten, sowie in flüssigen Medien oder im Vektor auch eine Geißel (Leptomonas- oder promastigote Form). Im Vertebraten, also auch im Menschen, spielt sich das Leben und die Vermehrung der Leishmanien streng intrazellulär ab, vorzugsweise im RES oder den Makrophagen. Alle Leishmanien sind rund, ovid oder ovalär und durchmessen 2 - 5 μ m. Morphologische Differenzierungen zwischen den einzelnen Arten wurden bislang nicht festgestellt.

Von den zahlreichen bisher in der alten und neuen Welt bekannt gewordenen *Leishmania* - Arten anerkennt man 6, die im Menschen zu leben verstehen und in diesem wohlumschriebene Erkrankungen hervorrufen können. Man tendiert heute dazu, als Ergebnis zunehmender Erfahrung und verfeinerter Prüfungsmethoden, die Zahl der den Menschen befallenden *Leishmania*-Arten als größer anzunehmen als man ursprünglich vermutete. Gleichwohl beanspruchen 3 Arten und die durch sie hervorgerufenen Erkrankungen nach wie vor das Hauptinteresse.

KRANKHEIT	ORGAN	ERREGER
Viscerale Leishmaniasis (Kala-Azar)	Innere Organe	L.donovani
Post-Kala-Azar-Leishmanoid	Haut	L.donovani
Kutane Leishmaniasis (Orientbeule)	Haut	L.tropica
Mukokutane Leishmaniasis (Amerikanische Haut- und Schleimhautleishmaniasis)	Haut - Schleimhaut	L.brasiliensis
Leishmaniasis tegumentaria diffusa	Haut	L.tropica L.brasiliensis

Tab. 1: Die wichtigsten Leishmaniasen des Menschen
mit ihren Erregern (WHO 1974)

Die v i s c e r a l e Leishmaniasis oder auch Kala-Azar genannt, ist zumindest in der alten Welt die wichtigste und prognostisch ungünstigste Erkrankung der Gruppe. Ihr Erreger, *L. donovani*, ist die einzige Art der Gattung, die permanent die inneren Organe besiedelt und dort schwere Gewebsschäden verursacht. Der Erreger konnte zu Beginn unseres Jahrhunderts durch MANSON, LEISHMAN, CHRISTOPHERS et al. anhand indischer Fälle eindeutig differenziert und beschrieben werden. Bis dahin neigte man dazu, das wohl-bekannte Krankheitsbild als eine lokal besonders bösartige Verlaufsform der Malaria, vielleicht als Folge ihres Zusammentreffens mit anderen Erkrankungen, aufzufassen (BENTLEY 1902, BRACHMARI 1911).

Die viscerale Leishmaniasis ist für unsere ärztliche Praxis vor allem darum von Interesse, weil sie auch in allen Ländern um das Mittelmeer und auf den meisten seiner Inseln vorkommt. Das trifft nicht nur für den Osten, sondern auch

für die bevorzugten Ferienreiseländer um das westliche Mittelmeer zu. Eine klinische Besonderheit der Kala-Azar in diesen endemischen Gebieten ist die Bevorzugung des Kindesalters. Ätiologisch nimmt diese Standortvariante von *L. donovani* nach heutiger Ansicht (NAUCK 1976) keine Sonderstellung ein, d.h. eine eigene *L. infantum* zu unterscheiden, ist nicht gerechtfertigt. Erwachsene Personen können im Mittelmeergebiet gleichfalls erkranken, sowohl Ortsansässige wie ortsfremde Touristen. Es gibt eine inzwischen recht umfangreich gewordene kasuistische Literatur über das Einzelauftreten der mediterranen Visceralleishmaniose in Mittel- und Nordeuropa bei Urlaubsrückkehrern aus dem Süden. Für Deutschland liegen Beschreibungen vor von REIMERS & SCHOEN et al. (1964), MEISSNER & SEYBOLD (1966), TRESKE & STANISIC (1968), HEILMANN (1971) und GOTTSTEIN (1975). Wie kürzlich berichtet, wurden in den letzten 11 Jahren in Barcelona 7 Erkrankungen bei Kindern bekannt (BALLARIN & VILA et al. 1974).

Das Einschleppereignis scheint auch bei Berücksichtigung einer wahrscheinlich nicht unerheblichen Dunkelziffer nicht allzu häufig zu sein. Sicher bleibt in dieser Beziehung die interne Leishmaniose zahlenmäßig weit hinter der Malaria zurück. Wegen der großen Gefahr einer unrichtigen oder zu späten Diagnose und einer in der Regel ungünstigen Prognose unbehandelter Fälle gehört die Infektion trotzdem zu den ernststen zooparasitären Problemen der Touristikmedizin.

Leishmania donovani wird durch seine Vektoren zyklisch-alimentär übertragen. Die Infektion des Menschen und der Mücke kommt bei deren nächtlichem Saugakt zustande, und in beiden Wirten geht eine Umwandlung und Vermehrungsentwicklung der Protozoen vor sich. Die bei der Blutmahlzeit an einem Menschen oder Tier aufgenommenen Leishmanien begeißeln sich in den oberen Teilen des Magendarmtraktes der Mücken, vermehren sich in dieser promastigoten Form durch Längsteilung und wandern als reife metazyklische

Flagellaten in Richtung auf die Stechwerkzeuge, wo sie sich mit dem Geißelfaden massenweise am Pharynxdach anheften. Mit dem Speichelstoß gelangen die Leishmanien bei erneutem Saugakt wieder in die Stichwunde. Bei den Phlebotomen saugen jedoch nur die Weibchen Blut. Das männliche Geschlecht leistet keine Beiträge zur Leishmaniaübertragung, weil es sich von Pflanzen- oder Obstsaften ernährt, vielleicht auch an faulendem Material und Kot. Der Vektor ist Bodenbrüter, also nicht an das Vorhandensein von Oberflächengewässern angewiesen, wie die Malaria-Mücken. Unter den Bedingungen des Mittelmeergebietes, wo vor allem die Arten *Ph. papatasi*, *Ph. perfilievi*, *Ph. major*, *Ph. sergenti* und *Ph. argentipes* von Bedeutung sind, scheint alljährlich nur eine Vermehrungsgeneration aufzuwachsen, woher in diesen endemischen Gebieten die größte Flächendichte des Vektors, der gern auch in ebenerdige Schlafräume einfliegt, im Spätsommer erreicht wird. Ausgedehnte Siedlungssanierungen, die in den vergangenen Jahrzehnten im Mittelmeergebiet zum Zwecke der Vernichtung von Malaria-Mücken zum Teil mehrfach systematisch durchgeführt wurden, haben die Überträger von Leishmanien immer nur begrenzte Zeit beseitigen können. Die Zurückdrängung der Malaria als Voraussetzung für den mediterranen Massentourismus hat die Leishmaniasen nicht gleichzeitig mit beseitigen können. In der letzten Zeit ist sogar eine ausgesprochene Wiederbesiedlung und Zunahme der Vektoren in Gebieten zu beobachten, in denen man sie mit Kontaktinsektiziden vernichtet zu haben glaubte.

Andere Übertragungsmöglichkeiten können zwar in den immer sehr seltenen Einzelfällen nicht immer vollkommen und von vornherein ausgeschlossen werden, sie sind jedoch ohne epidemiologische Bedeutung. Das gilt sowohl für die direkte Übertragung des Erregers von Mensch zu Mensch etwa über den unmittelbaren Kontakt mit Hautulcera oder Zwischenschaltung von saprophagen Zweiflüglern. Eine seltene Kuriosität ist auch die connatale Infektion bei Kindern von infizierten Müttern. Die Massenver-

mehrung des Erregers in den inneren Organen, zu denen, wenn vorhanden, auch die Placenta gehört, und die ausgedehnten pathologischen Reaktionen, vor allem die fortgesetzten Fieberschübe stören die Schwangerschaft so erheblich, daß sie, selbst wenn noch eine Konzeption zustande kommen sollte, kaum normal beendet werden kann. Ernst, wenngleich auch nicht minder selten, sind Einzelfälle von iatrogener Infektion anlässlich von Bluttransfusionen aus Spendern mit noch nicht klinisch auffälligen Infektionen (ANDRÉ & BRUMPT et al. 1957, BARR & BENGTSSON 1963).

Die E p i d e m i o l o g i e der visceralen Leishmaniasis steht jeweils im Zeichen geographischer Besonderheiten. Welche warmblütigen Tiere außer dem Menschen als Reservoir für *L. donovani* infrage kommen können, wird weitgehend durch die Sauggewohnheiten des örtlichen Vektors bestimmt. Diese können sehr verschieden sein, selten wird jedoch nur eine einzige Wirtsart als Blutspender frequentiert und ebenso selten alles gestochen, was sich anbietet. Für die Entwicklung örtlicher Ernährungstraditionen besteht meist ein breiter Spielraum.

Auch dort, wo Tierreservoirs als Ausweichquartiere für den Erreger nachweislich vorhanden sind, hat der Mensch meist ebenfalls Reservoirfunktion. Phlebotomen können sich an ihm entweder während der mehr oder minder langen noch symptomfreien Inkubationszeit oder an gutartig verlaufenden Fällen und vor allem dann leicht infizieren, wenn er das P o s t - K a l a - A z a r - L e i s h m a n o i d ausgebildet. Einzelne mit Leishmanien beladene Merozyten zirkulieren in allen diesen Fällen temporär immer auch im Peripherblut und können von den Vektoren beim Saugakt aufgenommen werden.

Ein epidemiologisch wichtiger Faktor ist der geringe Aktionsradius der zarten Vektoren und die Erfahrungstatsache, daß diese so gut wie nie lebend durch den menschlichen Güterverkehr oder Fahrzeuge verschleppt werden.

Bildet der Vektor eine synanthrope Population aus, d.h. lebt er in den Siedlungen und brütet er im Tiermist oder anderen Abfallansammlungen, so entwickelt sich zwischen Menschen und Haushunden eine Art Infektionsgemeinschaft. Beide können dann wechselseitig füreinander Erregerreservoir sein. Der Hund erkrankt auch und kann sterben. Ähnliche Verbreitungstraditionen können die Vektoren auch abseits vom Menschen in und um Nagetierhöhlen, Fuchsbauten oder anderen Carnivoren-Behausungen ausbilden. Als Faustregel hat sich ergeben, daß *L. donovani* relativ am häufigsten ein Reservoir in carnivoren Tieren nutzt, während die hautbewohnenden *Leishmania*-Arten mehr Nagetierreservoir bevorzugen (GRARNHAM 1965). Diese Regel kennt viele Ausnahmen. Auf dem indischen Subkontinent und offenbar auch im äquatorialen Ostafrika gibt es endemische Gebiete, in denen bisher kein suffizientes Tierreservoir gefunden werden konnte, und daher der Mensch als alleiniger Wirt gilt. Es hat sich jedoch als immer sehr viel einfacher erwiesen, tierische Infektionen zu bestätigen, als ein solches Reservoir, besonders ein "sylvatisches", mit Sicherheit auszuschließen.

Die I n k u b a t i o n s z e i t kann beim Menschen zwischen 14 Tagen und mehreren Jahren schwanken. Für den Regelfall wird man wenigstens einen Monat anzunehmen haben. Nicht jede Infektion muß progressiv verlaufen und mit dem Tode enden, vor allem nicht in den endemischen Gebieten. Es gibt mit Sicherheit ein spontanes Überwinden der Infektion auch ohne Folgeerscheinungen. Einer genauen anamnestischen Befragung kommt hohe Bedeutung zu.

F i e b e r ist zwar ein regelmäßiges und auch schon früh einsetzendes Symptom, aber der Fiebertyp kann stark wechseln. Besonders bei Erkrankungen, die im Mittelmeerraum erworben wurden, kann man bei fortlaufenden Temperaturmessungen einen im Tagesablauf zweigipfeligen Fieberverlauf feststellen (HARTMANN 1972, MOHR 1972, GOTTSTEIN 1975). Es empfiehlt sich jedoch, dieses Symptom nicht überzubewerten und stets im Zusammenhang mit anderen zu sehen.

Nach einem uncharakteristisch-schleichenden Krankheitsbeginn entwickelt sich eine mehr oder minder ausgeprägte generalisierte Lymphdrüenschwellung sowie eine immer deutliche H e p a t o - S p l e n o m e g a l i e.

Besonders die Milzschwellung kann dabei groteske Ausmaße annehmen. Die Anämie beginnt sich relativ frühzeitig zu entwickeln.

Bei langsamem K r a n k h e i t s v e r l a u f ist das subjektive Krankheitsgefühl oft lange Zeit nur gering, wobei auch die körperliche Leistungsfähigkeit zunächst erhalten bleibt. Der leichteren Ermüdbarkeit wird vor allem im endemischen Gebiet anfangs keine besondere Bedeutung geschenkt. Schließlich ist aber die fortschreitende Reduktion des Allgemeinzustandes nicht mehr zu übersehen. Das weiße Blutbild wird von einer Leukopenie mit relativer Mono- und Lymphocytose beherrscht. Die - Globulinfraktion im Serum steigt steil an und kann zur Formol-Gelprobe benutzt werden.

Nierenerscheinungen sind bei der visceralen Leishmaniose sowohl des Menschen (ANDRADE & JABUKI 1972), wie des Hundes (SCHLOTKE 1975) als ein offenbar regelmäßiges Begleitsymptom bekannt geworden. Beim experimentell infizierten Goldhamster tritt agonal eine mehr oder minder ausgeprägte Nierenamyloidose auf. Man kann sie mit der langdauernden Dysproteinämie und der reaktiven Hyperaktivität des Retikulo-Histiocytären Systems in Verbindung bringen. (MANSON-BAHR & MAHMOUD 1973) Mit der parasitischen Blockade des zellulären Abwehrapparates und der symptomatischen Agranulocytose hängt die Neigung zu Eiterungen und septischen Abszessen bei bakterieller Superinfektion zusammen. Thrombocytopenische Purpura deutet darauf hin, daß neben Schädigungen der Ery- und Leukopoese auch eine negative Bilanz an Thrombocyten vorkommt. In den ostindischen endemischen Gebieten wird nach längerem Krankheitsverlauf eine fortschreitende Hyperpigmentierung der Haut vornehmlich an den unbedeckten Körperstellen beobachtet. Sie hat der Krankheit den Namen Kala-Azar gegeben, der so viel wie "Schwarzkrankheit" bedeutet. In den Spätphasen

dieser schwarzen Krankheit kommt es dann auch zu dem charakteristischen "Post-Kala-azar-Leishmanoid". Parallel zur Hyperpigmentierung der Haut bilden sich in dieser multiple knotige Effloreszenzen, deren äußerer Aspekt mit dem bei der lepromatösen Lepra praktisch übereinstimmt. Regelrechte "Löwengesichter" werden beobachtet. Die Differentialdiagnose gelingt leicht durch Nachweis des jeweiligen, stets in großer Zahl vorhandenen Erregers in der Hautpunktion (skin-snip). Bei jeder klinisch manifesten Visceralleishmaniose überschwemmen die Erreger in großen Mengen Leber, Milz, Lymphknoten und Knochenmark. Damit ist die Chance gegeben, die Diagnose durch **D i r e k t n a c h w e i s d e s E r r e g e r s** zu erhärten. Relativ am reichsten ist die Parasitenausbeute in Milz- und Leberpunktaten. Es wird jedoch in jedem Falle den Patienten vergleichsweise am wenigsten belasten und gefährden, Sternalpunktat zu gewinnen, indem sich die Parasiten leicht färberisch darstellen lassen. Die Gewinnung von solchem Untersuchungsmaterial hat außerdem den Vorteil, auch bei begrenzten technischen Möglichkeiten praktikabel zu sein. Leishmanien sind bei korrekter Präparation durch ihre beiden ungleich großen und sich unterschiedlich intensiv anfärbenden Kerne mit unverwechselbarer Deutlichkeit gekennzeichnet.

Der **F o r m o l - G e l t e s t** ist ebenfalls auch bei einfacher technischer Ausstattung praktisch überall selbst ausführbar. Sein positiver Ausfall zeigt jedoch nur eine überstarke Vermehrung der Immunglobuline im Serum an und darf daher nicht als für Kala-azar spezifisch gelten. Die Schnelligkeit, mit der **I n - v i t r o - Z ü c h t u n g e n d e r E r r e g e r** diagnostisch deutbar werden, hängt von der Stärke der Einsaat ab. Festzustellen, ob das generell auch für den Tierversuch gilt, war Teil meiner Aufgabe. Unter den **S e r o r e a k t i o n e n**, die sich bei der Diagnose bewährt haben, hat in letzter Zeit die indirekte Immunfluoreszenzprobe besondere Bedeutung gewonnen.

Experimentell ist eine lange Reihe von Versuchstierarten erfolgreich mit *Leishmania donovani* zu infizieren, besonders, wenn ihnen der Erreger intravenös oder intracardial angeboten wird. In Affen, Hunden und Katzen verläuft die Infektion jedoch oft nur wenig progressiv mit verzögerter Erregervermehrung ab, so daß sich diese Tierarten für Infektionsversuche nur in sehr speziellen Fällen als geeignet erwiesen haben. Handlicher und ökonomischer ist die Verwendung von kleinen Nagetieren als Experimentalwirte. Die Liste der Arten, die in endemischen Gebieten spontan infiziert gefunden wurden oder sich als künstlich infizierbar erwiesen, hat bereits eine beachtliche Länge erreicht und vergrößert sich noch laufend.

Lange Zeit galt uneingeschränkt die Regel, wonach die weiße Maus als geeignetes Versuchstier für die Infektion mit *L. tropica* anzusehen sei, der Goldhamster für die mit *L. donovani*, der Hund für die mit *L. brasiliensis* und das Meerschweinchen für eine solche mit *L. enrietti*. Mit geringen Einschränkungen ist diese Regel auch weiterhin gültig. Wir haben es hier ausschließlich mit dem Wirtstierproblem für *L. donovani* zu tun.

Zunächst wiesen SMYLY & YOUNG (1924) darauf hin, daß bei der in vivo-Haltung von *L. donovani* der chinesische Zwerghamster (*Cricetulus griseus*) als Versuchstier gute Dienste leisten könne. Nach MAYER (1926) leistete der einheimische Großhamster (*Cricetus cricetus*) dasselbe. Diese Hinweise waren wichtig, da die gängigen Laboratoriumstiere bei dem Versuch, den Parasiten in ihnen zur Vermehrung zu bringen, versagten. Die genannten Hamsterarten waren jedoch wegen ihres unfreundlichen Naturells und den Schwierigkeiten, sie in Gefangenschaft zu vermehren, als Labortiere wenig geeignet. Die Einführung des syrischen Goldhamsters (*Mesocricetus auratus*) durch ADLER & THEODOR (1931) war der seither bedeutendste Fortschritt auf diesem Gebiet. Diese Tierart bietet gegenüber den sonst bisher als ähnlich oder

gleich empfänglich beschriebenen Experimentalwirten viele Vorteile. Vor allem ist aus ihr innerhalb eines halben Jahrhunderts ein echtes Laboratoriumstier geworden, das überall in beliebiger Menge zur Verfügung steht. Der Verlauf der visceralen Leishmaniose endet im Goldhamster weitgehend unabhängig von der Menge inokulierter Leishmanien in der Regel früher oder später tödlich. Das Tier scheint nicht in der Lage zu sein, der Vermehrung des Parasiten Einhalt zu gebieten und die Infektion zu überwinden, wenn es erst einmal zur intrazellulären Ansiedlung gekommen ist. Die Schädigung der inneren Organe, vor allem von Leber, Milz, Nieren und agonal auch Lungen durch die unspezifische Leishmanienvermehrung ist darum im Goldhamster oftmals noch stärker ausgeprägt als beim Menschen (PIEKARSKI & MESKE 1964, STAUBER 1973). Ob einem solchen Infektionsverlauf allerdings immer eine gültige Modellfunktion für die Verläufe im Menschen zukommt, ist schon 1964 von KRAMPITZ infrage gestellt worden und neuerdings durch Beobachtungen in einem endemischen Gebiet der Po-Ebene erneut unwahrscheinlich gemacht worden (BRADLEY et al 1973, PAMPIGLIONE et al 1974). Hier konnten in Leberpunktaten suspekter, aber keinesfalls das Bild einer manifesten Visceralleishmaniose bietender Patienten eigenartige Epitheloid-Zellgranulome gesehen werden, die zentral einige intrazelluläre Leishmanien enthielten. Dabei erwies es sich auch, daß solche Parasiten nicht nur von Zellen des RES getragen werden, sondern gleichwohl in den Leberparenchymzellen selbst auftauchen können. Der Befund ist elektronenoptisch gesichert und konnte in Versuchsmäusen reproduziert werden.

So wenig es den Erfahrungen der Touristikmedizin entsprechen mag, es gibt bei der natürlichen Ansteckung des Menschen mit *L. donovani* zumindestens im endemischen Gebiet nachweislich auch die gutartige Verlaufsform, ja wahrscheinlich sogar ein spontanes Beherrschen und Überwinden der Infektion, ohne daß es die charakteristischen alarmierenden klinischen Symptome gibt. Einige Zwischenfälle bei Bluttransfusionen stützen den Verdacht, daß es hinsichtlich *L. donovani* eine

importierte Dunkelziffer geben könne, die nicht nur auf vermeidbaren Fehldiagnosen beruht, sondern wahrscheinlich überhaupt völlig anders oder klinisch inapparent verläuft. Die Suche nach anderen Wirtstieren als dem Goldhamster, vor allem nach solchen, in denen die Infektionsverläufe ein ähnlich breites Verlaufsspektrum zeigen, wie im Menschen, ist weitergegangen. Zwischenberichte finden sich bei KRAMPITZ & MÜHLPFORDT (1964), KRAMPITZ (1965) und STAUBER (1973). Sie besagen, daß offenbar die Mehrzahl der infizierbar gefundenen Wildnagetierarten sich anders verhält als der Goldhamster. Die lineare oder doch wenigstens S-förmige Vermehrungskurve der Parasiten in vivo mit der Unentrinnbarkeit des schließlichen Wirtstodes fehlt ebenso bei der Baumwollratte (*Sigmodon hispidus*), wie oft beim ostasiatischen Zwerghamster (*Cricetulus griseus*) und der afroasiatischen Stachelmaus (*Acomys cahirinus*). Dafür neigt der Infektionsverlauf bei all diesen Wirtsarten mehr zu einem chronischen Aussöhnungszustand zwischen Wirt und Parasit, mitunter auch zum Übergewicht des ersten und zur Selbstreinigung. Es liegt auf der Hand, daß die Stammhaltung in Passagen durch solche Tierarten die Gefahr in sich trägt, daß der Parasit verloren geht. Aus demselben Grund ist ein Interesse des Diagnostikers an solchen Modellen nicht zu erwarten.

Bei vielen dieser Testungen auf Wirtseignung können in der Tat kaum mehr als Zufallserfolge oder Mißerfolge erwartet werden, da das dabei oft benutzte Material an Wildnagetieren oder deren Nachkommen schwerlich als einheitlich bezüglich genetischer Konstitution und Vorgeschichte erachtet werden kann. Das Beispiel Goldhamster zeigt jedoch sehr eindrucksvoll den Wert solcher Zufallstreffer.

Die allgemeine Regel, daß immer mehr Tierarten experimentell mit einem Mikroorganismus oder Parasiten infizierbar sind als in der Natur spontan infiziert vorgefunden werden, hat sich voll bestätigt. So ist z.B. der Siebenschläfer (*Glis glis*), dessen Verbreitungsgebiet bis tief in die mediterranen Leishmaniagebiete hineinreicht, experimentell infizierbar

(TARTAGLIA 1960, RIOUX 1968), jedoch gelang es dem letztgenannten Autor nicht, in seinen südfranzösischen Endemiegebieten natürlich infizierte Siebenschläfer zu finden. Bei den Sandrennmäusen der Familie Gerbillidae, die in semiariden Wüstenrandgebieten Nordafrikas, des mittleren Ostens und Südens der Sowjetunion in zahlreichen Arten verbreitet sind, sind andererseits sowohl natürliche Spontaninfektionen, wie künstliche Infektionserfolge in großer Zahl bekannt (KRAMPITZ 1965, DEDET & BEN OSMAN 1973, PETRISCEVA 1971). Das gilt mit den üblichen örtlichen Differenzen sowohl für *L. tropica* wie für *L. donovani*. Nach STAUBER (1973) endet die künstliche Infektion des Chinchilla schnell tödlich, obwohl die Parasitenvermehrung in ihm nicht allzu stark ist. Ähnliches gilt für die amerikanische Weißschwanzratte (*Myiostomys albicaudatus*), nur bleibt den Parasiten in dieser Nagetierart mehr Zeit für die Summierung langsamer Vermehrungserfolge. Völlig refraktär ist die Laborratte und man darf folgern, daß auch ihre wilde Stammform, die Wanderratte, sich in der Natur ebenso verhält. Für die Hausmaus und ihre Domestikationsformen im Labor gilt das nur mit gewissen Einschränkungen. Es gibt nämlich offenbar empfängliche Zuchtstämme, wenn auch die Vermehrungsrate in diesen nie sonderlich stark und sicher ist (PHILIPPE & CHADLI 1961, BRADLEY 1973). Der Infektionsverlauf einer visceralen Leishmaniase ist bei Mäusen auch vom verwendeten Parasitenstamm abhängig. Da die Maus Immunität gegen *L. donovani* entwickelt, ist das System geeignet, die Wirkung von immunsuppressiven Maßnahmen auf den Verlauf der Parasitose zu studieren.

Es können also je nach Wahl der Wirtstierart zwischen den Extremen eines absolut refraktären Verhaltens auf der einen und progredient tödlicher Massenvermehrung auf der anderen Seite alle Übergangstypen des Infektionsverlaufs und der aktiven Wirt-Parasitauseinandersetzung mit relativ hohem Sicherheitsgrad dargestellt werden. Die Ursachen für die eine oder andere Form solcher Auseinandersetzungen sind

freilich hier weitgehend unbekannt, wie bei vielen anderen parasitischen Wirtsbevorzugungen und -verweigerungen. Mit dem Hinweis auf humorale Wachstumsinhibitoren allein, wie sie REZAI et al (1975) für *L. tropica* und *L. enrietti* herausgestellt haben, ist diese Kernfrage sicher nicht beantwortet, obwohl in dieser Hinsicht für *L. donovani* und verschiedene Nagetierseren noch nichts Konkretes vorliegt.

Die Immunantwort ist bei allen Leishmania-infektionen nach SOULSBY (1972) prinzipiell vom zellgebundenen Typ. Doch die gesamte Wirt-Parasitenauseinsetzung geht bei diesen obligatorischen Zellparasiten auf der elementaren Ebene des gegenseitigen Zellkontaktes vor sich. GARNHAM (1965) weist auf die Merkwürdigkeit hin, daß die Parasiten ausgerechnet den phagozytierenden Abwehrapparat des empfänglichen Wirtskörpers als Habitat bevorzugen und es daher verstehen müssen, sich vor dessen Aggressivität zu schützen. Die von KRESS et al (1975) am in vitro-Modell der amastigoten Entwicklungsformen von *Trypanosoma cruzi* und ihrem Verhalten in Makrophagen gewonnenen Erfahrungen können auf Leishmanien übertragen werden. Unspezifisch mittels BCG aktivierte Makrophagen dulden kein Wachstum von *T. cruzi* in ihrem Inneren. Nicht stimulierten Makrophagen fehlt jedoch diese Abwehrhaltung. In sie eingedrungene oder von ihnen aufgenommene amastigote Flagellaten entkommen den Phagolysosomen im Zytoplasma, wo sie nicht mehr verfolgt werden können. Demnach scheint den Lysosomen der Wirtszelle die Schlüsselfunktion bei der Kontrolle intrazellulärer Parasiten zuzukommen. Der Stimulationsvorgang bietet viel Spielraum für Individualität und Zufälligkeiten. Arteigene Besonderheiten, die den Ausgang des Fangspieles bestimmen, bringen aber auch die Parasiten mit. MAUEL et al (1974) konnten z.B. beweisen, daß unspezifisch stimulierte Mäusemakrophagen in vitro zwar in der Lage waren, *L. enrietti*, jedoch nicht *L. tropica* abzufangen und zu töten.

II. Eigene Untersuchungen

Drei Tierversuchsreihen wurden durchgeführt. Die erste (a) galt dem Herausfinden der unter Laborbedingungen als Leishmaniwirt geeignetsten Kleinsäugetierart. Die zweite (b) sollte den Einfluß cytostatisch und immunsuppressiv wirkender Medikamente auf den Infektionsverlauf in der weißen Maus prüfen, und so das für den angestrebten Einsatzzweck geeignetste Präparat ermitteln. Im letzten Versuch (c) wurde die für *Leishmania donovani* befundene Wirtstierart (Versuch a) infiziert und zusätzlich unter das am erfolgversprechendsten erkannte Immunsuppressivum (Versuch b) gesetzt. Mit einer solchen Versuchsanordnung wurde versucht, die relativ günstigsten Bedingungen dafür zu schaffen, mit kleinsten Parasiteninokula in kürzester Zeit die besten Infektionsergebnisse, d.h. Parasitenvermehrungen im Versuchstier zu erzeugen.

1. Material und Methoden

Es wurde mit einem seit vielen Jahren in fortlaufenden Goldhamsterpassagen gehaltenen Stamm *Leishmania donovani* gearbeitet, der ursprünglich aus dem Hamburger Tropeninstitut stammte. Genauere Angaben über Herkunft und Gewinnungsgeschichte der Parasiten waren nicht mehr zu erhalten, jedenfalls aber waren sie ehemals aus einem in Indien infizierten Menschen isoliert worden.

Das für experimentelle Infektionen von Versuchstieren benutzte Inokulum bestand in der Regel aus einer Suspension der Milz eines hochinfizierten Goldhamsters in physiologischer Kochsalzlösung. Als maximal parasitenhaltig wurde jeweils die Milz eines Stamtieres erachtet, das im Begriff stand, an der Infektion zugrunde zu gehen. Mit einer solchen Organsuspension wurden in der ersten Versuchsreihe drei gradzahlige Verdünnungsstufen von 10^{-2} über 10^{-4} bis

10⁻⁶ hergestellt und diese zu je 0,5 ml den Versuchstieren der einzelnen Gruppen intraperitoneal appliziert.

Das verwendete T i e r m a t e r i a l stammte aus Züchtungen des Institutes, die entweder aus Wildfängen entwickelt worden waren oder als konventionelle Labor-tiervermehrungen zur Verfügung standen. Einheimische Feld-, Rötel- und Waldmäuse (*Microtus arvalis*, *Clethrionomys glareolus* und *Apodemus sylvaticus*) waren vor Versuchsbeginn mehrere Generationen parasitenfrei in Gefangenschaft gezüchtet worden. *Meriones unguiculatus* und *Mastomys natalensis* stammten ebenso aus institutseigener Zucht wie Goldhamster, Laborratte (Stamm Wistar) und weiße Mäuse (Stamm NMRI). In den Versuchen wurden nur ausgewachsene Tiere verwendet. Sie wurden während der gesamten Versuchsverläufe einzeln bei Zimmertemperatur in Makrolonkäfigen gehalten. Neben Trockenfutter (Altromin) und Leitungswasser ad libitum erhielten die Wildmäuse und Hamster noch zusätzlich 3 x wöchentlich kleine Mengen Apfel, Salat und Sonnenblumenkerne als Zukost.

Im ersten Versuch wurden die acht zu prüfenden Nagetiere entsprechend den Verdünnungsstufen in je 3 Gruppen zu jeweils 5 Tieren eingeteilt. (= 114). Dieses Prinzip wurde in den anderen Versuchen entsprechend den Fragestellungen geringfügig modifiziert, sowohl was die Gruppenzahl anbelangt, wie die in ihnen enthaltenen Einzelindividuen. Schon im ersten Versuch mußte die Zahl der Feldmäuse pro Gruppe auf drei reduziert werden.

Von jedem verwendeten oder getöteten Tier wurden T u p f p r ä p a r a t e von Leber, Milz, Knochenmark und Lunge angefertigt und nach Giemsa gefärbt. In diesen Abklatschpräparaten wurde der Infektionserfolg semiquantitativ durch direkten Parasitennachweis bestimmt. Die erste Versuchsreihe wurde nach 63 Tagen abgeschlossen.

Für den zweiten Versuch wurden immunsuppressiv und zytostatisch wirkende Präparate aus vier Stoffklassen ausgewählt. Aus der Reihe der Alkylantien kam das Cyclophosphamid ENDOXAN^R (Asta Werke AG) zur Verwendung. Die Substanz wurde in Aqua bidest gelöst in Dosen von 65 mg/kg Körpergewicht in Intervallen von 3 Tagen über einen Zeitraum von 14 Tagen bis maximal 4 Wochen im Wechsel intramuskulär und intraperitoneal verabfolgt. - Als Vertreter aus der Gruppe der Antimetabolite kam das Azathioprin IMUREK^R (Deutsche Wellcome GmbH) zur Anwendung. Nach frischer Lösung in pyrogenfreiem Aqua dest. wurde der Stoff in Dosen von 1,2 mg/kg Körpergewicht i.p. in dreitägigem Intervall verabfolgt. - Als dritte Substanz stand VINCRISTIN^R (Eli Lilly GmbH), ein mitosestörendes Alkaloid aus Vincarosea zum Einsatz. Es wurde täglich in Dosen von 0,035 mg/kg Körpergewicht i.p. in phys. NaCl-Lösung appliziert. -

Aus der Gruppe der Corticosteroide kam DEXAMETHASON TMA (Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eGmbH) zur Anwendung. Dosierte wurde hier täglich 1 mg/kg Körpergewicht 14 Tage lang i.m. - Die Kontrollserien erhielten jeweils gleiche Volumina phys. NaCl-Lösung parenteral injiziert. Im zweiten Versuch wurden insgesamt 270 Labormäuse infiziert: An 9 Sechsergruppen wurden von 10^{-1} bis 10^{-9} in Zehnerpotenzen abgestufte Parasitensuspensionen in gleichen Volumina von 0,3 ml i.p. verabfolgt. Bei diesem und dem 3. Versuch wurden nach 14tägiger Versuchsdauer in einwöchentlichem Abstand aus jeder Gruppe jeweils 1 Tier getötet und untersucht. Dabei verfolgten wir auch die relativen Milzvergrößerungen.

In der dritten Versuchsreihe wurde mit insgesamt 45 in Gefangenschaft gezogenen Rötelmäusen gearbeitet.

3 Serien à 15 Tiere wurden gebildet und mit insgesamt 5 Organ-Verdünnungsstufen von 10^{-2} bis 10^{-6} je 5 Gruppen à 3 Tiere i.p. injiziert.

2. Ergebnisse

a. Die Ermittlung der Wirtsbevorzugung

In der ersten Versuchsreihe starben 9 Versuchstiere (einzelne Goldhamster, Rötel- und Feldmäuse) interkurrent vor dem 63. Beobachtungstage, ohne daß ein Zusammenhang mit der Infektionsdosis bestand oder in ihnen die Leishmaniavermehrung eine Stärke erreicht hatte, daß man in ihr die Todesursache hätte annehmen dürfen. Lediglich ein Goldhamster und eine Rötelmaus, infiziert mit der höchsten Inokulationsdosis, die innerhalb der letzten 14 Tage vor Versuchsabbruch gestorben waren, enthielten in allen untersuchten Organen soviel Leishmanien, daß das Ableben der Wirte mit der Parasitenvermehrung in ursächlichem Zusammenhang gestanden haben dürfte. Bei der Untersuchung der Organe der 105 verbliebenen, äußerlich gesund erschienenen Wirtstiere ergab sich ein einheitlich negatives Ergebnis bei allen Laboratoriumsratten, *Meriones unguiculatus* und *Mastomys natalensis*. Als nächstes ergab sich eine Gruppe von Wirtstierarten, die eine gewisse Mittelposition zwischen refraktär und empfänglich einnahm: Einheimische Feldmäuse sowie Waldmäuse und vor allem die weißen Labormäuse des Zuchtstammes NMRI boten in Leber und Milz mitunter mehr oder minder große, aber immer begrenzte, intrazelluläre Vermehrungsnester der Leishmanien, ohne daß diese zu einer Spleno- oder Hepatomegalie Anlaß gegeben hätten. Eine Tendenz zur Generalisation über das gesamte bevorzugte Organ- oder Zellsystem war nicht erkennbar. Die Wirtsart scheint zwar im Prinzip nicht ganz ungeeignet, hält dessen Vermehrung und Ausbreitung jedoch unter Kontrolle. Diese Beobachtung wurde bei den genannten Wirtsarten unabhängig von der Infektionsdosis gemacht, trat jedoch bei den höheren Dosen ausgeprägter auf. Die besten Voraussetzungen für eine ungehemmte Massenvermehrung fanden die Parasiten in Rötelmaus und Goldhamster vor. Es war bei der gegebenen Versuchsanordnung nicht leicht, evident zu machen, welche

Wirtsart quantitativ das bessere Versuchsmedium darstellt. Bei der Rötelmaus zeigten 11 der 15 mit 3 Dosen Leishmanien infizierten Tiere mikroskopisch eine deutliche Erregervermehrung und Ausbreitung in den inneren Organen. Ihr Ausmaß zeigte Beziehungen zur Infektionsdosis (Tab. 2). Immer trat auch eine starke Vergrößerung und blaurote Verfärbung der Milz auf. Das Milzgewicht kann um das Hundertfache oder 10 - 20 % des Körpergewichtes ansteigen. Ähnliche Befunde konnten beim Goldhamster erhoben werden. Die Milzvergrößerungen waren jedoch weniger ausgeprägt, auch blieb das Ausmaß der Überschwemmung der inneren Organe zum Zeitpunkt der Abtötung hinter dem bei der Rötelmaus etwas zurück.

RÖTELMAUS				GOLDHAMSTER			
Organ	Befall d. Organs bei Inokulum			Organ	Befall d. Organs bei Inokulum		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}		10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Milz	5/5	3/5	3/5	Milz	5/5	4/5	2/5
Leber	5/5	3/5	1/5	Leber	3/5	3/5	0/5
Knochenmark	5/5	3/5	3/5	Knochenmark	3/5	2/5	1/5
Lunge	5/5	3/5	0/5	Lunge	0/5	0/5	0/5

FELDMAUS				WALDMAUS			
Organ	Befall d. Organs bei Inokulum			Organ	Befall d. Organs bei Inokulum		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}		10^{-2}	10^{-4}	10^{-6}
Milz	1/3	0/3	0/3	Milz	1/5	0/5	0/5
Leber	1/3	0/3	0/3	Leber	1/5	0/5	0/5
Knochenmark	1/3	0/3	0/3	Knochenmark	1/5	0/5	0/5
Lunge	0/3	0/3	0/3	Lunge	0/5	0/5	0/5

Tab. 2: Der in Tupfpräparaten ermittelte Organbefall mit *Leishmania donovani* bei heimischen Wildmäusen und Goldhamstern nach i.p. Verabfolgung von 3 verschiedenen hohen Infektionsdosen am 63 Tage p.i.

b. Prüfung von Immunsuppressiva

Es wurde im ersten Versuch in Übereinstimmung mit dem bisher Bekannten festgestellt, daß die weiße Labormaus zwar kein völlig refraktäres, aber auch kein günstiger Experimentalwirt für *L. donovani* ist.

Verimpft man den Parasiten auf eine Serie von Wirten dieser Art, so kann er in ihnen nicht nur überleben, sondern auch intrazelluläre Vermehrungsnester bilden. Art und Umfang dieser Vermehrungsherde sind allerdings bei dem verwendeten Mäusezuchtstamm nicht im Vorhinein übersehbar und auch hinterher nicht in gleicher Weise reproduzierbar. Es ergab sich der Verdacht, daß die Entwicklung einer starken Parasitenpopulation wie in Vorzugswirten bei der Labormaus durch Hemm- oder Abwehrmechanismen unterbunden wird, auf die man medikamentös einwirken könne, um dadurch vielleicht die Parasitenvermehrung von ihren Fesseln zu befreien. Der zweite Versuch diente also der Beantwortung der Frage, ob man durch Applikation von Zytostatika und Immunsuppressiva einen schlechten Leishmaniwirt experimentell in einen guten verwandeln kann.

Alle 270 Mäuse überlebten den Versuch ohne interkurrente Ausfälle und ohne äußere Krankheitszeichen.

Substitution	Parasitendosis (Verdünnungsstufe des Inokulums)									
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	
Endoxan ^(R)	4/6	5/6								
Imurek ^(R)	1/6	0/6								
Vincristin ^(R)	2/6	2/6								0/6 = einheitlich negatives Ergebnis
Dexamathason ^(R)	4/6	3/6								
phys. NaCl Lösung (Kontrolle)	4/6	0/6								

Tab. 3: Überblick über die Infektionserfolge mit *Leishmania donovani* bei Labormäusen unter dem Einfluß cytostatisch und immunsuppressiv wirkender Medikamente. Bedeutung der Infektionsdosis.

Es zeigte sich, daß der Infektionserfolg auf die beiden stärksten Inokulationsstufen beschränkt blieb, wobei sich auch in den Kontrollen ebenfalls jedes Mal erfolgreiche Infektionen von Leber und Milz nachweisen ließen. Relativ die meisten positiven Befunde ergaben sich bei der Organuntersuchung unter dem Einfluß von ENDOXAN^R und DEXAMETHASON^R. Die mit ENDOXAN^R behandelten Wirte entwickelten zum Teil ausgeprägte Milzvergrößerungen, die jedoch oft auch mit einem negativen Parasitenbefund in den Organen einhergingen oder mit der Parasitenvermehrung nicht quantitativ harmonisierten. Die mit Cortison behandelten Tiere zeigten während des Versuchsverlaufes einen Gewichtsverlust bis zu 17 % des Organgewichtes. An Stelle einer Splenomegalie reduzierte sich das Milzgewicht etwa entsprechend

der Gesamtgewichtsabnahme und konnte bis auf ein Hundertstel des Körper-Lebendgewichts fallen. Trotzdem waren relativ am meisten Parasiten jeweils in den Milzpräparationen zu finden. In der mit phys. Na-Cl-Lösung behandelten Kontrollgruppe konnte bei den untersuchten weißen Labormäusen ein positives Ergebnis lediglich in den höchsten Verdünnungsstufen erzielt werden. Eine deutliche Splenomegalie war auch hierbei festzustellen. Ähnlich den mit ENDOXAN^R behandelten Versuchstieren ließ sich eine direkte Beziehung zwischen Organgröße und mikroskopisch nachgewiesenem Parasitenbefund nicht herstellen.

Betrachtet man den Versuch 2 unter dem Gesichtswinkel der Organlokalisation, so ergibt sich das in Tabelle 4 wiedergegebene Bild.

Organ	Endoxan ^(R)	Dexamethason ^(R)	Kontrolle
Milz	7/54	7/54	3/54
Leber	9/54	1/54	2/54
Knochenmark	3/53	1/54	0/54
Lunge	1/54	1/54	0/54

Tab. 4: Infektionserfolg mit *Leishmania donovani* bei Labormäusen unter dem Einfluß von ENDOXAN^R und DEXAMETHASON^R. Die Organlokalisation.

Um schließlich noch eine Information darüber zu erhalten, welchen Einfluß möglicherweise der Zeitfaktor auf die in Tabellen 3 und 4 dargestellten Ergebnisse nimmt, wurden die Tiere des Versuches 3 in wöchentlichen Intervallen zwischen dem 14. und 28. Tag p.i. abgetötet. Die in diesen Zeiträumen unabhängig von der Infektionsdosis

und Organlokalisation unter dem Einfluß des jeweiligen Medikamentes positiv befundenen Tiere gibt Tabelle 5 wieder.

Wochen p.i.	Appliziertes Medikament	positive Befunde	davon in mehr als einem Organ
2	Endoxan ^(R)	2/54	2/54
	Dexamethason ^(R)	3/54	0/54
	Kontrolle	1/54	0/54
3	Endoxan ^(R)	3/54	3/54
	Dexamethason ^(R)	3/54	1/54
	Kontrolle	2/54	1/54
4	Endoxan ^(R)	4/54	1/54
	Dexamethason ^(R)	1/54	0/54
	Kontrolle	1/54	0/54

Tab. 5: Infektionserfolg mit *Leishmania donovani* bei Labormäusen unter dem Einfluß von ENDOXAN^R und DEXAMETHASON^R. Der Zeitfaktor.

c. Das günstigste Arrangement

Das Ergebnis des ersten Versuches wies auf die Rötelmaus als einen sehr geeigneten Wirt für *Leishmania donovani* hin, sofern man als Maßstab die Parasitenvermehrung und nicht die Überlebenszeit gelten läßt. Der zweite Versuch erbrachte insofern ein verwertbares Ergebnis, als sich zwei Wirkstoffe ergaben, mit denen noch am ehesten erfolgreiche Aktivierungen der *Leishmania*-Vermehrung zu erreichen sein könnten: ENDOXAN^R und DEXAMETHASON^R. Da der zweite Versuch keinen eindeutigen Hinweis darauf erbrachte, daß eines der beiden Mittel für das ins Auge gefaßte Ziel besser geeignet sei als das andere, wurden sie im letzten Versuch beide in der Rötelmaus geprüft.

Tabelle 6 zeigt das Ergebnis bezogen auf die Infektionsdosis.

Substituion	Infektionsdosis				
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
Endoxan ^(R)	2/3	2/3	2/3	1/2	1/3
Dexamethason ^(R)	2/3	0/3	2/4	2/5	0/6
Kontrolle	2/3	2/3	1/3	2/3	1/3

Tab. 6: Einfluß von 2medikamentösen Aktivatoren auf die Vermehrung verschiedener Infektionsdosen von *Leishmania donovani* in der Rötelmaus.

Es zeigte sich, daß ein offenkundiger Vorteil durch die Verabfolgung der Wirkstoffe, insbesondere was die Begünstigung schwacher Infektionsdosen anbelangt, bei der getroffenen Versuchsanordnung nicht erreicht wird. Die Organbevorzugung und ihre etwaige Veränderung unter Medikamenteneinfluß gibt Tabelle 7 wieder.

Organ	Endoxan ^(R)	Dexamethason ^(R)	Kontrolle
Milz	8/14	6/15	8/15
Leber	7/14	6/15	7/15
Knochenmark	5/14	5/15	5/15
Lunge	4/14	4/15	5/15

Tab. 7: Die Organlokalisation von *Leishmania donovani* in Rötelmäusen unter dem Einfluß zweier medikamentöser Aktivatoren.

Auch bezüglich der Organlokalisation fanden sich zwischen den verschiedenen behandelten Serien keine signifikanten Unterschiede. Der Abbruch des Versuches geschah ab dem 14. Tage p.i. durch Tötung und Untersuchung je eines Tieres aus jeder Gruppe in einwöchentlichem Abstand.

Der Einfluß des Zeitfaktors ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tage p.i.	Appliziertes Medikament	positive Befunde	davon Para- sitien in mehr als einem Organ
14	Endoxan ^(R)	0/5	0/5
	Dexamethason ^(R)	0/5	0/5
	Kontrolle	0/5	0/5
21	Endoxan ^(R)	3/4	3/4
	Dexamethason ^(R)	3/5	3/5
	Kontrolle	4/5	4/5
28	Endoxan ^(R)	5/5	4/5
	Dexamethason ^(R)	3/5	3/5
	Kontrolle	4/5	3/5

Tab. 8: Einfluß des Zeitfaktors auf den Infektions-
erfolg von Rötelmäusen mit *Leishmania donovani*
bei Substitution mit ENDOXAN^R und
DEXAMETHASON^R.

Der Versuch mißlang mittels medikamentöser Substitution, die Parasitenvermehrung besonders bei kleinen Infektionsdosen so zu steuern, daß sie binnen weniger Wochen nachweisbar wird. Die mehr oder minder gute Eignung einer Wirtstierart als Vermehrungsmedium erwies sich durch immunsuppressive oder zytostatische Substitutionstherapie im Rahmen dieser getroffenen Versuchsanordnung praktisch als kaum beeinflusbar.

III. Diskussion

Über die Eignung von Kleinsäugetierarten als Wirtstiere für *L. donovani* liegen zahlreiche Veröffentlichungen vor. Galt es zunächst, ein geeignetes Laboratoriumstier für Leishmanieninfektionen zu finden, so liegt das Hauptinteresse derzeit bei der Aufklärung epidemiologischer Fragen. Für experimentelle Infektionen mit *L. donovani* ist der Goldhamster nach wie vor das Tier der Wahl. Seine Empfänglichkeit und leichte Manipulierbarkeit unter Laboratoriumsbedingungen stehen trotz Wirtseignung anderer ebenfalls hochempfänglicher Kleinnager außer Frage (KRAMPITZ & MÜHLPFORDT 1964, PIEKARSKI & MESKE 1964). Es war ein Anliegen meiner Arbeit, die weitverbreiteten heimischen Nagetierarten auf ihre Wirtseignung für *L. donovani* zu untersuchen.

Das Ausbleiben der Vermehrung von Leishmanien in den Geweben einiger von mir untersuchter Tierarten kann einerseits Folge von ungünstigen Bedingungen im Gewebe selbst sein oder aufgrund von Substanzen zustandekommen, die die Vermehrung oder das Überleben der Parasiten verhindern. Die Frage, ob dabei, wie für bestimmte Tierarten nachgewiesen (z.B. Ratten), eine Anti-Leishmania-Aktivität im Serum (REZAI 1975) oder natürliche Antikörper verantwortlich sind, kann durch diesen Versuch nicht beantwortet werden. Der Infektionsverlauf der visceralen Leishmaniose bei der weißen Maus scheint vom verwendeten Mäusestamm abhängig zu sein. Dies beweisen Untersuchungen von BRADLEY, wobei die Hälfte der insgesamt 30 untersuchten Stämme ein natürliches Resistenzverhalten zeigte.

Das Problem des Nachweises kleinster Leishmanienmengen stellte sich auch in diesem Versuch. Über medikamentöse Parasitenausschwemmungen ins periphere Blut zu diagnostischen und therapeutischen Zwecken beim Menschen finden sich einige Literaturhinweise.

Die Immunantwort auf eine Leishmanieninfektion läßt sich auf verschiedene Weise unterdrücken. Dies beweisen Untersuchungen mit hohen Dosen von promastigoten Leishmanienformen sowie Bestrahlungen mit Röntgenstrahlen und Versuchen an thymektomierten Labortieren (BEBEHANI 1973, ILLARDI et al. 1969, SHAW & VOLLER 1968). Hinweise auf den Einsatz von immunsuppressiven Medikamenten finden sich bei R. HERMAN & J.P. FARRELL (1974), die über den Einfluß von Cyclophosphamid bei latenten und chronischen Leishmanieninfektionen berichten. Erst bei chronischem Infektionsverlauf war unter dem Einfluß von Cyclophosphamid eine deutliche Parasitenvermehrung in Leber und Milz nachweisbar. In Übereinstimmung mit den von mir erzielten Ergebnissen fand sich bei einer latenten Infektion kein signifikanter Unterschied im Parasitengehalt von Leber und Milz der behandelten Tiere im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.

Meine Arbeit erbrachte keinen Beweis dafür, daß in der tierexperimentellen Diagnostik der visceralen Leishmaniose immunsuppressive Pharmaka einen Beitrag dazu liefern, einen möglichst frühen Hinweis auf eine vorliegende Leishmanieninfektion zu erhalten. Das Ergebnis der in diesem Versuch mit Cortison behandelten NMRI Mäuse sowie Rötelmäuse bestätigt nicht die von STAUBER (1955) gemachte Beobachtung, demnach Cortison einen stabilisierenden Effekt auf die Wirtszellmembran ausübt und zu einem Ansteigen der Parasitenzahl innerhalb der phagocytierenden Zelle führt. Ebenso fand sich in meinem Versuch kein Anhalt für einen rascher einsetzenden Infektionsverlauf von *L. donovani*, der der Wirkung von Cortison zuzuschreiben wäre, wie er von ILLARDI (1969) et al. bei Hamstern beschrieben worden ist. Auffällig erschienen die bei Rötelmäusen in Organ- und Gewebepreparaten gefundenen intra- und extrazellulär gelegenen Leishmanien in bezug auf ihre Größe, wie sie in keiner der Vergleichstiergruppen gefunden wurden. Der Organbefall bei Rötelmäusen entspricht den Verhältnissen, wie sie auch beim Menschen gefunden wurden.

Am aussichtsreichsten ist die Punktion der Milz, die jedoch nicht ungefährlich ist. Leberpunktionen unter Sicht bringen ebenfalls gute Ergebnisse, jedoch nicht so deutlich wie in der Milz. Es folgt mit Abstand die Knochenmarkspunktion.

Die Frage, ob man ein kleines, handliches Tier für die Laboratoriumsarbeit empfehlen kann, kann mit ja beantwortet werden. Die Arbeit mit einem alten Stamm von *L. donovani* hat Indizien dafür gebracht, daß es sich lohnen würde, diesen Versuch zu wagen.

IV. Zusammenfassung

Tierinfektionen mit amastigoten Entwicklungsformen von *Leishmania donovani* wurden durchgeführt, wobei mit einem alten, an Goldhamstern adaptierten Laborstamm indischer Provenienz gearbeitet wurde. Beschrieben und ausgewertet sind drei Tierversuchsreihen. In der ersten galt es, eine im Labor zu haltende Kleinnagetierart herauszufinden, die sich unter experimentellen Bedingungen als geeigneter Wirt für den Parasiten erweist. Dabei wurden erstmalig auch drei wichtige einheimische Wildnagetierarten auf ihre Wirtseignung überprüft: die Feldmaus (*Microtus arvalis*), die Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*) und die Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*). Als Ergebnis zeigte sich, daß die Rötel- oder Waldwühlmaus dem Goldhamster als Experimentalwirt bezüglich der Empfänglichkeit für den Parasiten und seiner Vermehrungsrate in ihr wenigstens gleichwertig ist, ihn sogar in dieser Beziehung oft noch übertrifft. Der verwendete Labormaus-Zuchtstamm NMRI erwies sich gegenüber *Leishmania donovani* nicht völlig refraktär, wie die Laborratte oder *Mastomys natalensis*. Es wird in Mäusen regelmäßig das Persistieren von intrazellulären Vermehrungsnestern des Parasiten in den parenchymatösen Abdominalorganen beobachtet. Der Versuch schien begründet, solche schwache Infektionen durch Applikation von Zytostatika und Immunsuppressiva zur Exazerbation zu bringen und dadurch die Labormaus für den diagnostischen Tierversuch geeigneter zu machen. Ein zweiter Tierversuch wurde so durchgeführt, daß die experimentelle *Leishmania*-infektion in 4 Tiergruppen unter den Einfluß von 65 mg/kg KGW ENDOXAN^R i.m. und i.p. in dreitägigem Intervall bis 4 Wochen, von 1,2 mg/kg KGW IMUREK^R i.p. ebenfalls in dreitägigem Intervall, von 0,035 mg/kg KGW VINCRISTIN^R täglich i.p. und 1 mg/kg KGW DEXAMETHASON^R i.m. täglich 14 Tage lang gesetzt wurde. Die Dosierungen wurden sowohl nach den Angaben verschiedener Autoren bei tierexperimentellen Arbeiten als auch unter

teilweiser Berücksichtigung der von den pharmazeutischen Herstellern angegebenen Empfehlungen ausgewählt, wie sie auch bei der zytostatischen Behandlung des Menschen Anwendung finden. Eine gewisse, wenngleich auch nicht erhebliche Wirkung auf die Parasitenvermehrung war bei der Verabreichung von ENDOXAN^R und DEXAMETHASON^R zu bemerken. Diese Mittel wurden daher im dritten Versuch an der am geeignetsten befundenen Versuchstierart, der Rötelmaus, getestet. Der Versuch mißlang mittels medikamentöser Behandlung, die Leishmaniavermehrung besonders bei kleinen Infektionsdosen so zu steuern, daß sie binnen weniger Wochen nachweisbar wird. Die mehr oder minder gute Eignung einer Wirtstierart als Vermehrungsmedium für den Parasiten erwies sich durch immunsuppressive oder zytostatische Behandlung im Rahmen der getroffenen Versuchsanordnung als praktisch nicht beeinflusbar.

Summary

Experiments have been carried out to infect laboratory animals and small wild rodents with amastigotes of *Leishmania donovani*, the causative agent of human Kala-Azar. An old Indian strain of the parasite was used adapted since many years to golden hamsters. 3 groups of animal experiments are described. Firstly the rodent species shall be found, which can serve as the most favourable experimental host for the parasite. For the first time also three common European field rodents have been proved for its host qualification: the continental field vole (*Microtus arvalis*), the longtailed field mouse (*Apodemus sylvaticus*) and the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). It was possible to demonstrate, that the bank vole's susceptibility for the parasite is the same and even greater than that of the golden hamster. The used Swiss mouse strain (NMRI) was found not completely refractory as it is to observe in the case of white and multi-mammate rats (*Mastomys natalensis*) respectively. In mice commonly the persistence of small nests of parasites in the internal organs was observed. An exacerbation of such cryptic infections never could be found after administration of several cytostatic and immunosuppressive drugs. Therefore this method seems to be not successful to make the laboratory mouse more suitable for diagnostic purposes. The second group of experiments was carried out to prove the influence of the following drugs on host-parasite interaction: 65 mg/kg body weight Endoxan^R i.m. and i.p. in intervals of 3 days up to a month; of 0,035 mg/kg Imurek^R daily i.p. and 1 mg/kg Dexamethason^R i.m. daily for 14 days. A certain, but not remarkable effect on parasites growth was seen after administration of Endoxan^R and Dexamethason^R respectively. In the last experiment these drugs have been administered to support the experimental *Leishmania* infection in the most suitable

rodent host, the bank vole. However, a significant influence of these drugs could not be established on parasites reproduction in the vole. Especially failed a favourisation of small inoculation doses within a few weeks. It was not possible to influence the reproduction patterns of *Leishmania donovani* in a more or less favourable experimental rodent host by simultaneous administration of cytostatic or immunosuppressive drugs.

V. Literaturverzeichnis

- Adler, S., O. Theodor Investigations on Mediterranean
Kala - Azar
I.-V. Proc. R. Ser. B. 108 (1931),
447
- Andrade, Z.A., A nefropatia do calaazar
K. Jabuki Revta. Inst. Trop. Med. S. Paulo 8
(1972), 259
- Andrè, R., L. Brumpt, Leishmaniose cutanée - gang-
B. Dreyfus, lionaire et Kala - Azar trans-
A. Passelecqi fusionè
S. Jacobs Bull. Mèm. Soc. Mèd. Hôp. (Paris)
73 (1957), 854
- Ballarin, A., C. Vila Infantile Leishmaniasis in Spanien
Münch. med. Wschr. 116 (1974), 10
- Barr, M., E. Bengtsson Kala - Azar transferred by
exchange blood transfusion in two
Swedish infants
Abstr. 7 Internat. Congr. Trop.
Med. Malar.
Rio. d.J. 1963, 204
- Bebehani, K. Cutaneous leishmaniasis in mice.
A model of a non healing disease
Abstr. 9 Internat. Congr. Trop.
Med.
Athen 1973, II, 136

- Bentley, C.A. Kala - Azar as an analogous disease to Malta fever
J. trop. Med. Hyg. 5 (1902), 270
Malaria and Kala-Azar
Indian med. Gaz. 37 (1902), 459
- Brachmari, U.N. On the nature of epidemic fever in Lower Bengal commonly known as Burdwan fever
(1854 - 1855)
Indian med. Gaz. 46 (1911), 340
- Bradley, D.J. et al Some observations on chronic visceral Leishmaniasis of the mouse
Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg. 67 (1973), 21
- Dedet, J.P., F. Ben Osman Sensibilite experimentale de divers rongeurs de Tunisie vis-à-vis de souches autochtones de Leishmania tropica (Wright 1903) et de Leishmania donovani (Laveran et Mensil, 1903)
Arch. Inst. Pasteur Tunis 50 (1973), 85
Ref. T.D.B. 71 (1974), 692
- Garnham, P.C.C. The Genus Leishmania
Bull. Wld. Hlth. Org. 44 (1971), 477
The leishmaniasis, with special reference to the role of animal reservoirs
Am Zoologist 5 (1965), 141

- Gottstein, U. et al. Kala - Azar (viscerale Leishmaniose) - eine wichtige Krankheit nicht nur der Tropen
Dtsch. med. Wschr. 100 (1975), 2022
- Hartmann, M.G. Protozoenkrankheiten durch Leishmanien.
Viscerale Leishmaniose: Kala - Azar.
In Gsell, O., W. Mohr (Hrsg.): Infektionskrankheiten, Bd. IV (Springer: Berlin - Heidelberg - New York 1972), 169
- Hartmann, M.G.L. Jaff  H. M hlpfordt Leishmaniasen. In: Lehrbuch der Tropenkrankheiten/ begr. von E.G. Nauck Hrsg. von W. Mohr (u.a.) Thieme - Stuttgart, 4. Auflage 1976), 187
- Heilmann, K. et al. Tödlich verlaufende Leishmaniasis visceralis (Kala - Azar) bei Mittelmeerurlaubern
Dtsch. med. Wschr. 96 (1971), 36
- Ilardi et al. Infezione sperimentale con cepi scarsamente virulente di Leishmania donovani in hamster splenectomizzati, o irradiati, o trattati con cortisone
Parasitologia 11 (1969), 161

Krampitz, H.E.

Parasitämie und Organbefall bei experimentellen Infektionen einiger xerothermophiler Wildnagetierarten mit *Leishmania donovani* (Sudan Stamm)

Z. Tropenmed. Parasit. 16 (1965), 350

Krampitz, H.E.
H. Mühlpfordt

Zur Empfänglichkeit einiger xerothermophiler Nagetierarten für die experimentelle Infektion mit *Leishmania donovani*

(Calcutta - Stamm)

Z. Tropenmed. Parasit. 15 (1964), 270

Kress, Y.,
B.R. Bloom et al.

Resistance of *Trypanosoma cruzi* to killing by macrophages
Nature 257 (1975) 394

Manson-Bahr, P.E.C.,
A. Mahmoud

Renal involvement in visceral leishmaniasis

Abstr. 9 Internat. Congr. Trop. Med.

Athen 1973, II, 132, 226

Mauel, J., M. Behin,
Biroum-Noerjasin,
J.J. Doyle

Parasites in the Immune Host
Ciba Symp., No 25, 225 - 23,
Ciba Foundation, 1974

Mayer, M.

Empfänglichkeit des europäischen Hamsters (*Cricetus frumentarius* für Kala - Azar. Arch. Schiff's.-Tropenmed. 30, 347 (1926)

- Meissner, W.,
G. Seybold
Viscerale Leishmaniose (Kala -
Azar) in Deutschland
Med. Welt (Stuttgart) 17 N.F.
(1966), 48
- Pampiglione, S. et. al.
Studies on Mediterranean Leish-
maniasis
2. Asymptomatic cases of visceral
Leishmaniasis
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.
68 (1974), 447
- Petrishcheva, P.A.
Natural focality of leishmaniasis
in the USSR. Bull. Wlth. Hlth.
Org. 44, 567 (1971)
- Philippe, E.,
A. Chadli
La leishmaniose experimentale de
la souris (Leishmania donovani
et Leishmania tropica)
Arch. Inst. Pasteur Tunis 38
(1961), 241
- Piekarski, G.,
Ch. Meske
Experimentelle Infektionen mit
pathogenen Protozoen, in: Hand-
buch der experimentellen Pharma-
kologie begr. von A. Heffter u.
U. Heubner
Bd. 16 Erzeugung von Krankheits-
zuständen durch das Experiment,
Teil 9 Infektion I,
(Springer: Berlin - Göttingen -
Heidelberg 1964), 191
- Reimers, E.
H. Schoen.
H. Spiess
Kala - Azar bei einem deutschen
Kind
Mschr. Kinderheilk. 113 (1964), 100

- Rezai, H.R. et al. Anti - leishmania activity of
normal animal sera
Ann. Trop. Med. Parasit. 69
(1975), 29
- Rioux, J.A. et al. Ecologie des Leishmanioses dans
le sud de la France 2. - Les
reservoirs selvatiques Infestation
spontanée du Renard (*Vulpes*
vulpes L.)
Annales de Parasitologie (Paris)
43 (1968), 421
- Schlotke, B. Leishmaniasis (Kala - Azar) bei
Hunden in Bayern
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 88
(1975), 70
- Shaw, J.J.,
A. Voller Observations on the susceptibility
of white mice to infection with
Leishmania donovani mexicana
following whole body X - irra-
diation
Ann. Trop. Med. Parasit. 62 (1968),
174
- Smyly, H.J.,
C.W. Young Experimental Kala - Azar in a
hamster (*Cricetus griseus*)
Proc. Soc. exp. Biol. 21 (1924),
357
- Soulsby, E.J.L. Cell medical immune responses in
parasitic infections. In "Immunity
to animal parasites" Kap. 3, 57
Acad. Press N.Y. 1972

Stauber, L.A.

Leishmania: The progress of infection in experimental animals
Abstr. 9 Internat. Congr. Trop. Med.

Athen 1973 I, 138

Leishmaniasis in the hamster

In: Some physiological aspects and consequences of parasitism.

Hrsg. von W.H. Cole New Brunswick, New Jersey:

Rutgers University Press 1955, 76

Tartaglia, P.

Experimentelle Empfänglichkeit des Siebenschläfers (*Glis glis*) für Kala - Azar

Z. Tropenmed. Parasit. 11 (1960) 187

Treske, U.

M. Stanisic

Kala - Azar bei Mittelmeerurlaubern

Dtsch. med. Wschr. 93 (1968), 1320

Herrn Prof. Dr. H. E. KRAMPITZ
danke ich für die Überlassung
des Themas und die stets gewährte
Unterstützung bei der Anfertigung
dieser Arbeit.

Weiterhin möchte ich Frau W. KRAMPITZ
für die technische Assistenz meinen
herzlichen Dank aussprechen.

L e b e n s l a u f

Am 13. November 1948 wurde ich als Sohn des Lehrers Georg Krause und seiner Ehefrau Martha, geb. Dups, in Menden im Sauerland geboren. Nach dem Besuch der Volksschule und des humanistischen Heilig-Geist-Gymnasiums legte ich 1967 das Abitur ab. Im Anschluß an meinen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr begann ich im Sommersemester 1969 mit dem Studium der Biologie an der Universität Bonn.

Im Wintersemester 1970/71 erhielt ich die Zulassung zum Medizinstudium an der Ludwig-Maximilian-Universität in München. Hier bestand ich nach dem ersten Semester das Vorphysikum und im Sommersemester 1972 das Physikum.

Mit der vorliegenden Dissertation begann ich im Oktober 1974 am Institut für Infektions- und Tropenmedizin in München.

Im Wintersemester 1975/76 bestand ich an der Münchener Universität das medizinische Staatsexamen.

Es folgte meine Medizinalassistentenzeit im Kreis-krankenhaus Ebersberg bei München und im Allgemeinen Krankenhaus in Hagen, wo ich derzeit auf der chirurgischen Abteilung tätig bin.

